Legionella Latex Test

REF DR0800M………………50 tests **FR**

1. DOMAINE D'APPLICATION

Le Legionella Latex Test est un test d'agglutination au latex pour l'identification des espèces prédominantes de *Legionella* à partir de colonies sur milieu gélosé, chez des patients suspectés de Legionellose ou à partir de l'environnement. Le Legionella Latex Test Oxoid permet l'identification séparée de *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 et sérogroupes 2–14 ainsi que la détection de sept autres espèces de *Legionella* qui sont à l'origine de maladies humaines.

2. INTRODUCTION

La maladie du Légionnaire, ainsi nommée suite à son apparition en 1976 à la Convention de la Légion américaine, est dûe à *Legionella pneumophila* et à d'autres espèces de Legionella.

Elle est caractérisée par une maladie respiratoire fébrile aiguë allant de l'infection benigne à la pneumonie fatale.

Il a été reconnu que la maladie apparaît à la fois sous la forme épidémique et endémique et que les symptômes cliniques ne permettent pas de différencier facilement les cas sporadiques d'autres infections respiratoires.

On estime que, mondialement, 25 000 cas des Legionellose apparaissent chaque année. Les facteurs de risques connus comprennent, l'immunodépression, l'abus de tabac et d'alcool et toutes maladies pulmonaires associées.

Le taux de mortalité, qui peut atteindre jusqu'à 25% dans le cas de patients immunodéprimés non traités, peut-être abaissé si la maladie est diagnostiquée rapidement et une thérapie antimicrobienne appropriée mise en place rapidement.

On a montré que *Legionella pneumophila* est la cause majeure d'une pneumonie et d'une maladie fébrile aiguë appelée la Fièvre de Pontiac. Les souches de *L. pneumophila* et autres espèces de *Legionella* sont isolées à partir de patients ayant une pneumonie ou à partir de l'environnement (principalement l'eau).

Quelques rares isolements ont aussi été signalés dans des cas autres qu'une pneumonie, tels que des blessures.

Le réservoir majeur des espèces de *Legionella* apparaît être les sites d'eau fraîche, les appareils à air conditionné et les diverses installations de plomberie.

L. pneumophila est la plus commune des causes de maladies du Légionnaire. Aujourd'hui, 14 sérotypes différents existent dont *L. pneumophila* sérogroupe 1 qui représente 90% des cas.

Le Legionella Latex Test Oxoid utilise des particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps qui agglutinent en présence des antigènes de paroi de *Legionella* formant des agrégats bien visibles. Cela permet un dépistage simple et rapide des espèces et sérotypes prédominants de *Legionella* pathogènes.[1,2]

3. COMPOSITION DU COFFRET

DR801 réactif test pour Legionella pneumophila *serogroupe 1*

Consiste en des particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin spécifiques réagissant avec l'antigène *Legionella pneumophila* sérogroupe 1. Chaque coffret contient le réactif en quantité suffisante pour 50 tests.

DR802 réactif test pour Legionella pneumophila *sérogroupes 2–14*

Consiste en des particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin spécifiques réagissant avec l'antigène *Legionella pneumophila* sérogroupes 2–14. Chaque coffret contient le réactif en quantité suffisante pour 50 tests.

DR803 réactif test Legionella spp.

Consiste en des particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin spécifiques réagissant avec les espèces et les sérotypes suivants:

L. longbeachae 1 et 2
L. bozemanii 1 et 2
L. dumoffii
L. gormanii
L. jordanis
L. micdadei
L. anisa

Chaque coffret contient le réactif en quantité suffisante pour 50 tests.

DR804 Suspension de contrôle positif

Une suspension polyvalente de *Legionella* dans un tampon, pour 25 tests.

DR805 Suspension de contrôle négatif

Une suspension de *L. spiritensis* dans un tampon ne réagissant pas avec le réactif test, pour 25 tests.

DR806 Latex de contrôle

Consiste en des particules de latex bleu sensibilisées par des anticorps de lapin non réactifs, pour 50 tests.

DR807 Tampon

PBS – pH 7,3.

DR500 Cartes de réaction

50 cartes de réaction à usage unique sont fournies dans le coffret.

Mode d'emploi

4. MATÉRIEL NÉCESSAIRE

Le matériel suivant est nécessaire mais non fourni dans le coffret:

– une oese microbiologique et un Bec Bunsen
– solution saline (pour la méthode en tube facultative)
– désinfectant de laboratoire approprié, par exemple, solution à l'hypochlorite de sodium >1,3% pds/vol.

5. PRÉCAUTIONS

IVD Pour usage *in vitro* uniquement.

Ne pas congeler.

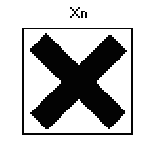
Les réactifs contiennent 0,1% d'azoture de sodium comme agent de conservation.

L'azoture de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb ou en cuivre pour former des azotures metalliques hautement explosifs. Pour prévenir une accumulation d'azoture dans la tuyauterie, évacuer avec un grand volume d'eau.

Les échantillons peuvent contenir des micro-organismes pathogènes, manipuler avec précaution.

La formation d'aérosol doit être évitée, un soin pariculier doit être pris durant l'homogénéisation au Vortex.

Pour toute information sur les composants potentiellement dangereux, veuillez-vous référer à la fiche de données de sécurité du fabricant et à l'étiquette du produit.



R22 - Nocif par ingestion

6. CONSERVATION

Ce coffret doit être conservé à 2–8°C.

7. PROCÉDURE DE CONTRÔLE

Les suspensions de contrôle fournies devraient être utilisées pour vérifier le bon fonctionnement des réactifs au latex, chaque jour avant les tests de routine.

La suspension de contrôle positif (DR804) doit montrer une agglutination avec le réactif au latex en 1 minute. La suspension de contrôle négatif (DR805) ne doit pas montrer d'agglutination en 1 minute.

Ne pas utiliser le test si les réactions avec les suspensions de contrôle sont incorrectes.

8. NOTES IMPORTANTES

Ne pas toucher l'échantillon avec le compte-gouttes de façon à ne pas contaminer les réactifs. S'assurer que les capuchons soient bien vissés afin d'éviter toute contamination et évaporation des réactifs. Après utilisation, remettre le coffret dans le réfrigérateur en s'assurant que les flacons soient placés bien droits.

9. RECUEIL ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les souches provenant d'échantillons de l'environnement ou d'échantillons cliniques peuvent être cultivées sur des milieux de culture *Legionella* non sélectifs ou sélectifs.

Des schémas d'isolement typique sont donnés aux paragraphes 3 et 4. Les *Legionella* nécessitent en isolement primaire du chlorydrate de L-cystéine. Pour s'assurer que la souche est une *Legionella* il est necessaire de montrer qu'elle ne peut pas pousser sur un milieu ne contenant pas de chlorydrate de L-cystéine (Legionella Agar sans cysteine CM655 + SR175). Cette confirmation peut être pratiquée avant ou après le test au latex.

Les milieux et suppléments Oxoid suivants peuvent être utilisés pour la culture des *Legionella* avant l'utilisation du test au latex.

BCYE (CM655 + SR110), BPMAα (CM655 + SR110 + SR111), MWY (CM655 + SR110 + SR118), GVPC (CM655 + SR110 + SR152).

Pour plus de détails sur ces produits veuillez contacter votre distributeur local(e).

Les cultures peuvent être testées à n'importe quel stade de la croissance à condition que les colonies soient de taille suffisante. Cependant, des cultures plus anciennes peuvent produire des réactions filamenteuses qui rendent l'interprétation plus difficile.

10. METHODES

Deux méthodes peuvent être utilisées. Les deux méthodes, directe ou en tube, donnent des résultats fiables. Si une souche a une consistance filamenteuse, il est recommandé d'utiliser la méthode en tube.

A – Test direct

1. Ramener les réactifs au latex à température ambiante. Mélanger vigoureusement les suspensions de latex. Expulser tout le latex de la pipette compte-gouttes.
2. Déposer 1 goutte de chaque réactif au latex sur 4 cercles de la carte de réaction. Les déposer près du bord du cercle.
3. Ajouter 1 goutte de suspension tampon à chacun des 4 cercles. S'assurer que le tampon et le latex ne se mélangent pas à ce stade.
4. En utilisant une oese, prélever une colonie d'au moins 1 mm (2 ou plusieurs si les colonies sont plus petites) et émulsionner soigneusement dans le tampon. Pour des résultats optimaux, s'assurer que la suspension est homogène. Répéter l'opération avec des colonies similaires pour chaque réactif.
5. Mélanger les réactifs au latex et les suspensions de façon à couvrir toute la zone de réaction. Flamber l'oese.
6. Imprimer à la carte un mouvement de rotation circulaire et observer l'agglutination. Ne pas dépasser 1 minute et ne pas utiliser une loupe pour lire le résultat.
7. Une fois l'opération terminée, éliminer la carte de réaction dans un désinfectant approprié.
8. Refermer les flacons et les placer de nouveau au réfrigérateur.

B – Méthode en tube

1. Ramener les reactifs au latex à température ambiante. Mélanger vigoureusement les suspensions de latex. Expulser tout le latex de la pipette compte-gouttes.
2. Identifier les tubes de façon appropriée et delivrer 0,4 ml de solution saline à 0,85% dans chaque tube.
3. Sélectionner à l'aide d'une oese 4 à 10 colonies d'apparence similaire et émulsionner dans la solution saline.
4. Mélanger à l'aide d'un Vortex pendant 5 secondes (Cf. Paragraphe: Précautions).
5. Déposer 1 goutte de chaque réactif au latex (3 réactifs tests et le réactif de contrôle) sur 4 cercles de la carte de réaction. Les déposer près du bord du cercle.
6. A l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter 1 goutte de suspension de cellules sur chacun des 4 cercles et les mélanger aux réactifs au latex. Couvrir toute la zone de réaction.
7. Imprimer à la carte un mouvement de rotation circulaire et observer l'agglutination. Ne pas dépasser 1 minute et ne pas utiliser une loupe pour lire le résultat.
8. Une fois l'opération terminée, éliminer la carte de réaction dans un désinfectant approprié.
9. Refermer les flacons et les placer de nouveau au réfrigérateur.

11. LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat positif

Un résultat est positif si l'agglutination des particules de latex bleu apparaît en 1 minute et s'il n'y a pas d'agglutination dans le cercle de contrôle. Une réaction positive indique la présence des antigènes du serogroupe de Legionella correspondant dans l'échantillon.

Résultat negatif

Un résultant négatif est obtenu si aucune agglutination n'apparaît en 1 minute et si la suspension reste homogène.

Résultat non interprétable

Un test est ininterprétable si le réactif de contrôle montre une agglutination. Cela indique que la culture entraîne une autoagglutination.

Réaction granuleuse ou filamenteuse

Des réactions granuleuses ou filamenteuses peuvent apparaître occasionnellement compte-tenu de la nature particulière du matériel testé. Quand de telles réactions apparaissent, elles doivent être interprètées selon les critères suivants:

Le résultat est positif quand il y a éclaircissement visible du fond bleu. Le résultat est négatif quand il n'y a pas d'éclaircissement notable du fond bleu.

12. LIMITES DU TEST

1. Le test d'agglutination au latex est un diagnostic présomptif. Confirmer les résultats positifs en utilisant des tests biochimiques.
2. Un test d'agglutination au latex négatif ne signifie pas que la culture n'est pas une *Legionella*. Cela indique seulement que la culture n'est pas une *Legionella pneumophila* sérogroupes 1 à 14 ni une *L. longbeachae* 1 et 2, *L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa*.[6]
3. Une réaction croisée peut se produire entre *L. pneumophila* sérogroupe 1 et sérogroupe 9. Si une souche de Legionella agglutine avec les 2 réactifs au latex, sérogroupes 1 et 2–14, cette réaction croisée doît être suspectée.
4. Des réactions croisées entre le réactif test pour *Legionella sp.* et certains sérotypes d'autres legionella (e.g. *L. parisiensis*, *L. sainthelensi*, *L. steigerwaltii*, *L. wadsworthii*, *L. santicrucis*, *L. tusconensis*, *L. gratiana*, *L. cincinatiensis*) ont été signalées.[6]
5. Le test est conçu pour séparer les différentes espèces et les sérotypes de *Legionella*. Il est donc necessaire de s'assurer que les colonies testées sont bien des bacilles Gram négatif et qu'elles ne se développent pas sur des milieux ne contenant pas de cystéine.

13. PERFORMANCES

Les réactifs du Legionella Test Kit Oxoid ont été testés pour détecter d'éventuelles réactions croisées avec les micro- organismes cités ci-dessous. Aucune réaction croisée n'a été observée.

L. cherri
L. birminghamensis
L. rubrilucens
L. maceachernii
L. oakridgensis
L. erythra
L. feelei
L. fairfieldensis
L. brunensis
L. spiritensis
Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas cepacia
Pseudomonas aeruginosa
Aeromonas hydrophila
L. hackeliae
L. israeliensis
L. jamestowniensis
L. quinlivanii
L. moravica
Stenotrophomonas maltophilia
Bacillus subtilis
Citrobacter freundii
Eschericia coli
Serratia marcescens

Le Legionella Latex Test a été évalué dans un laboratoire clinique et d'hygiène. Un total de 40 souches cliniques et 279 de souches issues de l'environnement ont été testées, couvrant les *Legionella pneumophila* sérogroupe 1–14 et les *Legionella* non *pneumophila*. Chaque souche a été confirmée par sérologie.

La performance du coffret Oxoid a été aussi comparée à d'autres coffrets de réactif au latex *Legionella* disponibles dans le commerce. Les résultats des essais sont résumés ci-dessous.

Le sérogroupe 15 de L. pneumophila n'a, pour l'heure, pas été isolé des échantillons cliniques ou environnementaux en Europe[9] et n'a été isolé qu'une seule fois aux États-Unis.[8]

Le sérogroupe le plus récemment décrit ne contient qu'une seule souche (Lansing-3 (ATCC® 35251)). À partir de l'étude de l'isolat du Jena-1[10,11], un 16ème sérogroupe a été proposé, mais des analyses complémentaires ont montré que la souche ne constituait pas un sérogroupe unique mais faisait partie du sérogroupe 4 de L. pneumophila (groupe monoclonal Portland 1).[12,13]

Des données internes supplémentaires ont été récoltées et démontrent qu'Oxoid Legionella Latex Kit (DR0800M, DR0801M, DR0802M et DR0803M) est capable de détecter le sérogroupe 15 de Legionella pneumophila (ATCC® 35251) ainsi que les sérogroupes 1-14 de L. pneumophila et d'autres souches pathogènes de Legionella, autres que L. pneumophila. Cependant, puisque seule une souche du sérogroupe 15 est disponible pour le test, il n'a pas été jugé approprié de renommer le réactif de latex des sérogroupes 2-14 d'après les résultats d'un isolat unique.

Les Oxoid Legionella kits permettent aux utilisateurs de classer les échantillons en trois groupes : sérogroupe 1 de L. pneumophila, sérogroupes 2-15 de L. pneumophila (avec réactif 2-14) et d'autres Legionella species grâce à une procédure d'analyse rapide et simple.

	Legionella Oxoid	Coffret Latex/ Serologie
	Nombre	%
Legionella pneumophila sérogroupe 1	59/59	100
Legionella pneumophila sérogroupes 2–14	136/136	100
Autres Legionella comprises dans le coffret	51/54	94,4
Autres Legionella non comprises dans le coffret	0/60	100
Autres micro-organismes	0/10	100

La sensibilité globale du Legionella Latex Test OXOID est de 99%.
La spécificité globale du Legionella Latex Test OXOID est de 100%.

ATTENTION: Ce produit contient d'azoture de sodium. Nocif en cas d'ingestion.

14. REFERENCES:

1. Sedgwick, A. K. and Tilton, R. C. (1983). J. Clin. Microbiol., 17: 365–368.
2. Ciesielski, C. A., Blaser, M. J. and Wang, W. L. (1986). Infect. Immun., 51: 397–404.
3. Dennis, P. J. L. (1988). Isolation of Legionellae from Environmental Specimens p. 31–44. In Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (eds). A Laboratory Manual for *Legionella*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.
4. Dournon, E. (1988). Isolation of Legionellae from Clinical Specimen p. 13–30. In Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (eds). A Laboratory Manual for *Legionella*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.
5. Cowan and Steel's Manual for the identification of Medical Bacteria 3rd Ed. Barrow, G. I. and Feltham, R. K. A. (eds) (1993) p. 161–163. University Press, London.
6. Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (1988). Identification of Legionellae by Serological Methods. In Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (eds). A Laboratory Manual for *Legionella*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.
7. Data on file Oxoid Ltd.
8. Brenner et al. Legionella pneumophila Serogroup Lansing 3 Isolated from a Patient with Fatal Pneumonia, and Descriptions of L. pneumonia subsp. pneumophila subsp. nov., L. pneumophila subsp. fraseri subsp. nov., and L. pneumophila subsp. pascullei subsp. nov. Journal of Clinical Microbiology; 1988; 26: 1695-1703.
9. Helbig, J. H et al. Pan-European Study on Culture Proven Legionnaires' Disease: Distribution of Legionella pneumophila Serogroups and Monoclonal Subgroups. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease; 2002; 21: 710-716.
10. Lück, C et al. Isolation of a Legionella pneumophila Strain Serologically Distinguishable from all known Serogroups. Zentralblatt fuer Bakteriologie. 1995; 282: 35-39.
11. Fry, N. K and Harrison, T. G. An evaluation of intergenic rRNA gene sequence length polymorphism analysis for the identification of Legionella species. Molecular Identification and Epidemiology; 1998; 47: 667-678.
12. Lück, P. C et al. DNA Polymorphisms in Strains of Legionella pneumophila Serogroups 3 and 4 Detected by Macrorestriction Analysis and Their Use for Epidemiological Investigation of Nosocomial Legionellosis. Applied and Environmental Microbiology; 1995; 61: 2000-2003.
13. Helbig, J. H. 2003. Personal Communication.

Légende des symboles

REF	Référence de catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Consulter le mode d'emploi
	Limite de température
LOT	Code de lot
	A utiliser avant
	Fabricant



X5057C Avril 2013



OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK